

가토 신장기능에 미치는 Pro-Atrial Natriuretic Peptide의 영향

충남대학교 의과대학 마취과학교실*, 전북대학교 의과대학 생리학교실

이 정 은* · 조 경 우 · 김 선 희

(1990년 4월 20일 접수)

= Abstract =

Effects of Intrarenal Arterial Infusion of Pro-Atrial Natriuretic Peptides on Renal Function in Unanesthetized Rabbits

Jeong Eun Lee*, Kyung Woo Cho and Suhn Hee Kim

Department of Physiology, Jeonbuk National University Medical School, Jeonju

**Department of Anesthesiology, Chungnam National University Medical School, Daejeon*

It is well known that the atrial natriuretic peptide (ANP) has a prepro-hormone of 151 amino-acids which loses their hydrophobic signal peptide to form 126 amino acid prohormone. The whole prohormone is released and then cleaved by proteases into more than one circulating forms. Recently, Winters et al. (1988a, b) reported that high concentrations of N-terminal fragments of prepro-ANP (26~55), (56~92) and (104~123) were detected in human plasma. However, their physiological roles have not been established. The present study was conducted to determine whether the N-terminal fragments of pro-ANP have any effect on the renal function and to compare the effect with those of C-terminal fragments of pro-ANP.

The results indicate that intrarenal arterial infusions of prepro-ANP (26~41), (26~55), (56~92) and (104~123) induced no significant changes in renal function. Whereas α -human ANP (prepro-ANP, 124~151) and pro-ANP caused a significant increase in urine volume, renal plasma flow, glomerular filtration rate, urinary excretions of sodium, chloride and potassium, and fractional excretion of sodium.

These results suggest that the N-terminal fragments of pro-ANP are ineffective, while the C-terminal fragments retain the natriuretic and diuretic activities.

Key Words: Renal function, Renal hemodynamics, Natriuresis, Diuresis, Atrial natriuretic peptide

서 론

포유동물의 신장기능 유지에는 비교적 높은 여과압력이 필요하여 신장의 기능조절에는 적절한 혈압의 유지가 선결요인이므로 심장과 신장의 기능은 직접, 간접으로 서로 관련되어 있다고 볼 수 있을 것이다. 신장의 기능이 심장의 기능과 직접적으로 관

련되어 있다는 증거는 심장의 좌심방압력 또는 용적의 증가가 요량 및 전해질배설량의 증가를 일으킬 수 있다는 Henry등(1956)의 연구에 의하여 처음으로 제시되었다. 체액량의 증가는 일차적으로 심방의 압력 또는 그 용적을 증가시킬 것이고 그러한 변화가 요량의 증가를 일으켜, 체액량의 음성feedback(negative feedback control)가 이루어져 생명현상 유지에 가장 중요한 세포외액의 항상성이 유지될 것

이라고 생각된다. 그후 심방의 확장, 혈압의 증가 및 빈맥에 의한 요량과 전해질배설량의 증가 현상은 많은 관심의 대상이 되었다(Reinhardt et al, 1977; Wood, 1963). 그러나 심장에 의한 신장에서의 체액량조절기전은 Henry등(1956)의 보고 이후 25년이 경과한 후에야 더 깊이 이해할 수 있게 되었다(De Bold et al, 1981). Henry등(1956)의 보고와 거의 같은 시기에 심방에만 특징적으로 존재하는 심방내재 특수과립(specific atrial granules)이 Kisch(1956)에 의하여 처음으로 발견되었으며, 이러한 사실은 Jamieson과 Palade(1964)에 의하여 확인되었을 뿐만 아니라 분비성과립(secretory granules)임이 강력하게 시사되었다. 1976년 Marie등은 체액량 및 전해질대사의 변화가 심방의 분비성 특수과립의 형태와 수를 변화시킬 수 있음을 보고하였고, 이러한 발견은 De Bold(1979)에 의하여 확인됨으로서 심방의 분비성 과립이 체액량 및 전해질대사와 밀접하게 관련되어 있음이 확실해졌다. 그후 De Bold(1981)는 백서의 심방 추출액을 백서정맥내에 투여함으로써 아직까지 알려진 바 없는 강력한 natriuresis 및 diuresis를 일으키는 물질이 심방에 존재함을 발견하게 되었다(atrial natriuretic peptide, ANP). 이외에도 ANP는 신장으로부터의 renin 분비 및 angiotensin II에 의한 aldosterone의 분비를 억제할 수 있을 뿐 아니라 혈관을 이완시킬 수 있어(Cantin & Genest, 1985; Needleman et al, 1984; Atlas & Laragh, 1986) renin-angiotensin-aldosterone계와는 생리적으로 반대역할을 나타내어 고혈압의 발생과 유지의 기전을 이해하는데 대단히 중요한 물질로 대두되었다(Needleman et al, 1984; Atlas & Laragh, 1986; Cho et al, 1987). 또한 ANP는 뇌하수체 후엽으로부터의 항이뇨 호르몬(ADH)의 분비를 억제한다고 알려진 바 있다(Needleman et al, 1984; Atlas & Laragh, 1986). 요량 및 전해질 배설증가효과와 몇가지 체액저류 호르몬의 분비 억제 및 혈압조절기전에 대한 영향등은 ANP가 생리적으로 체액량의 항상성과 혈압의 조절에 대단히 중요한 역할을 하고 있음을 시사한다.

ANP는 150~152개의 아미노산을 갖는 prepro-hormone으로 합성되며, 이중 24~25개는 signal peptide이고, 126개는 pro-hormone으로 심방의 분

비성 과립내에 저장되며, regulated secretion의 특성을 가져(Kelley, 1985) 자극에 반응하여 분비되는데, 분비과정에서 또는 분비직전에 C-terminal의 아미노산 24~28개로 구성된 활성화된 peptide로 되어 분비된다고 한다(De Bold, 1985; Ballerman & Brenner, 1986; Forssmann, 1986; Graham & Zisfein, 1986). C-terminal의 ANP는 2개의 cysteine 분자들이 갖는 ring의 구조를 가지며, 이 환상구조는 생리적기능의 발현에 필수적임이 알려져 있다(De Bold, 1985; Ballerman & Brenner, 1986; Forssmann, 1986; Graham & Zisfein, 1986). Pro-hormone의 N-terminal 조각 peptide의 생리적 활성화에 대해서는 앞으로 추구하고야 할 바이며, 현재로서는 그 역할이 잘 알려져 있지 않다(Winters et al, 1988a, b). Winter등(1988a, b)은 혈장내에 pro-ANP(1~30)과 (31~67)이 ANP보다 30~40배 더 높은 농도로 존재하며 만성신부전증에서는 20~70배 정도 증가한다고 하였다. 또한 pro-ANP(1~30), (31~67) 및 (79~98)은 대동맥을 이완시키며(Vesely et al, 1987a), 신장내의 guanylate cyclase 활성도를 증가시킨다(Vesely et al, 1987b)고 하였다. 그러나 prepro-ANP 및 pro-ANP에 의한 이뇨 및 Na 배설량 증가효과에 대해서는 알려진 바 없다.

이에 본 연구에서는 무마취가토의 일측신동맥내에 prepro-ANP(26~41), (26~55), (56~92) 및 (104~123)을 투여할 때 나타나는 신장기능의 변화를 α -hANP(prepro-ANP, 124~151)과 prohormone의 투여효과와 비교 관찰하여 prepro-ANP의 N-terminal 부분의 peptide들의 생리적 기능을 구명하고자 하였다.

실험 방법

1. 실험동물

실험동물은 체중 1.8 kg 내외의 New Zealand 백색 가토로 암수 구별없이 사용하였으며, 실험전 1주일간은 물과 사료를 충분히 공급하였다.

2. 좌측 신동맥내 약물투여

20 mg/kg thiopental sodium을 정맥내에 투여하

여 마취시키고 고정대에 배를 위로하여 고정하였다. 이 정맥에 24 G Neoflon needle tubing (Viggo AB, Helsingbore, Sweden)을 통하여 hypotonic solution을 15 ml/kg/hr의 속도로 주입하였으며, 이때 사용한 용액의 조성은 glucose 3%, NaCl 0.3% 그리고 creatinine 0.3%였다. 중심이동맥에 polyethylene관(PE)을 삽입하여 필요에 따라 채혈하고 동맥압은 중심이동맥에 삽입된 PE관에 Statham pressure transducer를 연결하여 multichannel recording system (MK IV, Narco Bio-systems, Houston, Texas, U.S.A)에 기록하였다. 집노는 하복부에 중앙질개를 하여 요관을 노출시키고 silicon관을 삽입하여 양측 신장에서 형성한 요를 각각 분리하여 채취하였다. 3 시간동안 hydration시킨 후 Cho등(1987)의 방법에 따라 좌측신동맥내에 직접약물을 투여하였다. 즉 대퇴동맥의 일정한 부위에서 23 G PE관을 13.5 cm 정도 상방으로 삽입하여 양측 신동맥 분지사이로 추정되는 곳에서 cannula의 경사진 끝이 좌측으로 위치하도록 하였다. Cannula끝의 정확한 위치는 양측 신장의 para-aminohippuric acid(PAH) 배설량의 비율을 비교하므로써 측정할 수 있었다. 매 실험이 끝난후 부검하여 cannula끝의 위치를 확인하였다.

3. 집노방법 및 채혈

PE관이 좌측신동맥 분지 앞에 위치하도록 조작한 후 PAH 8 mg/kg을 priming하고 PAH 0.04%를 함

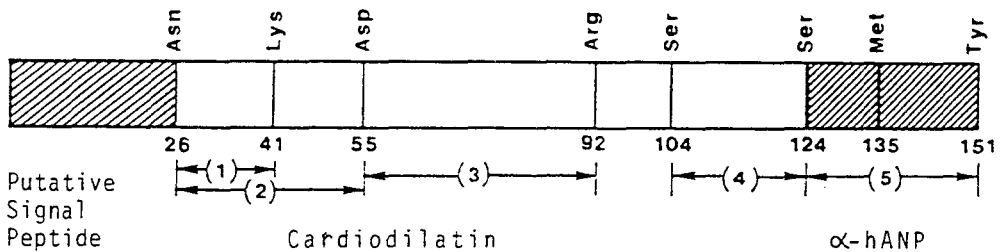
유한 hypotonic solution으로 hydration시켰다. 요량이 일정해짐에 따라 10분간 약물을 투여하고 계속하여 5~6회 집노하였다. 혈장 creatinine과 PAH 측정을 위한 채혈은 실험이 끝난후 대동맥에 삽입된 PE관을 통하여 실시하여 채혈후 즉시 냉각, 원심분리하였다.

4. 약물투여

Prepro-ANP (26~41), (26~55), (56~92), (104~123), α -hANP (prepro-ANP, 124~151) 및 purified rat pro-ANP (Fig. 1)를 실험직전에 12~24 μ g/ml되도록 bovine serum albumin(BSA)이 0.1% 함유된 생리적식염수에 녹여 사용하였다. 약물투여는 대퇴동맥 cannula를 Harvard infusion pump에 연결하여 0.1 ml/min의 속도로 하였으며, 상기한 약물은 일정한 비율로 inulin이 들어있는 용액에 녹인 후 투여하여 실제 좌측 신동맥내로 투여된 양은 요중으로 배설되는 inulin량을 측정하여 산출하였다. 약물 투여전과 약물 투여후에는 생리적 식염수를 같은 속도로 계속해서 주입하였다.

5. Pro-ANP의 정제

심방조직내의 pro-ANP의 정제는 전 논문(Kim et al, 1989)에 기술한 바와 같이 하였다. 즉 Sprague-Dawley계 백서를 sodium pentobarbital(30 mg/kg)로 마취한 후 양측 신장을 제거하고 48시간후에 다



S.Oikawa et al., Nature 309,724 (1984)

K.Nakayama et al., Nature 310,699 (1984)

Fig. 1. Human preprohormone of atrial natriuretic peptide. The numbers of the various amino acid correspond to the peptide fragments described in the text. Number one is the first amino acid at the amino (N)-terminal end of the preprohormone.

시 마취하였다. 경동맥에 23 G PE관을 삽입하여 채혈하고 빠른 시간내에 흉곽을 열어 양측 심방을 적출하여 aprotinin, phenylmethylsulfonylfluoride (PMSF) 및 ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA)가 들어있는 5.0 N acetic acid에 넣었다. 심방조직을 100°C에서 10분간 끓이고 Polytron homogenizer로 균질화 시킨후 4°C 10,000×g에서 15분간동안 원침시켰다. Pellet내의 ANP를 상기 방법으로 재추출하여 상층액을 채취하여 냉동건조시켰다. Acid 추출물의 lyophilizate를 1.0 N acetic acid 2 ml에 녹여 원침시키고 상층액을 Sephadex G 50(1.5×30 cm)에 가하여 1.0 N acetic acid로 용출하였다. 용출 속도는 1 drop당 10초로 하였으며, 20 drops씩 분획하여 채집하였다. 분획된 시험관내의 ANP 농도는 방사면역측정법으로 정량하고, 용출액은 다시 냉동건조하였다. Pro-ANP가 나오는 시험관에 차거운 생리적식염수를 가하고 이들을 합하여 ANP 농도를 측정하였다.

6. Atrial natriuretic peptide의 방사면역 측정법

ANP의 측정은 Cho등(1988a, b)의 방법에 따라 시행하였다. ANP 방사면역측정은 0.2% neomycin, 10 mM EDTA, 50 BAEE/ml soybean trypsin inhibitor(SBTI), 0.02% sodium azide 및 1% BSA를 포함하는 0.1 M Tris-acetate buffer (pH 7.40)를 사용하였으며, 심방 추출시료는 100 μ l의 Tris-acetate buffer로 reconstitution하여 사용하였다. 100 μ l의 항체, 시료 및 [I-125] AP III를 첨가하여 4°C에서 24시간 incubation하고 Dextran-coated charcoal 용액으로 항체에 결합된 tracer와 결합되지 않은 tracer를 분리하였다.

7. 화학적 분석

채집한 요와 혈액의 화학적 분석중 PAH는 Smith 등(1945)의 방법을 이용하여 발색시켰고, 사구체여과율을 보기 위해 측정한 creatinine은 Phillips의 방법(1964)을 이용하여 발색시켜 spectrophotometer (Gilford)로 측정하였으며, inulin은 Vurek등(1966)의 방법에 따라 fluorospectrophotometer (Farrand 사, U.S.A)로 측정하였다. Na와 K의 측정은

flamephotometry(Beckman, Fullerton, CA, U.S.A)에 의하였으며, Cl은 digital chloridometer(Buchler Inc, Fortlee, NJ, U.S.A)로 측정하였고, osmolality는 빙점강하를 이용한 osmometer(Advanced Instruments사, Needham Heights, MA, U.S.A)를 사용하여 측정하였다.

8. 사용약물

사용한 약물중 SBTI, carbodiimide, heparin, aprotinin, phenylmethylsulfonylfluoride, neomycin, Trizma, phenylmercuric acetate, creatinine, charcoal, para-aminohippuric acid, inulin은 Sigma 제, ANP 및 prepro-ANP fragments는 Peninsula Laboratories 제, Dextran T-70, Sephadex는 Pharmacia 제, glucose는 Fluka제를 사용하였다.

9. 통계적 처리

실험성적의 통계적 처리는 Student's t-test에 의하였으며, P-value가 최소 0.05의 값을 보이는 경우 유의한 차이로 삼았다. 실험치의 표현은 mean \pm SE로 하였다.

실험 결과

1. Prepro-ANP(26~41)가 신장기능에 미치는 영향

무마취가토의 좌측심동맥내 prepro-ANP(26~41)을 0.4 μ g/kg/min 투여할 때 요량은 0.21 \pm 0.04에서 0.18 \pm 0.03 ml/kg/min로 유의한 변화를 보이지 않았으며 신혈류량 및 사구체여과율 역시 유의한 변화를 보이지 않았다(Table 1). 요중 Na 배설량은 6.90 \pm 2.05에서 5.55 \pm 1.77 μ Eq/kg/min로 감소하는 경향을 보였으며, 요중 K 및 Cl 배설량 역시 유의한 변화를 보이지 않았다. Na의 분획배설량은 2.48 \pm 0.76에서 2.06 \pm 0.61로 감소하는 경향을 보였으며, 유리수분배설량은 0.080 \pm 0.028에서 0.073 \pm 0.024 ml/kg/min로 유의한 변화를 보이지 않았다.

2. Prepro-ANP(26~55)가 신장기능에 미치는 영향

Prepro-ANP(26~55) 0.4 μ g/kg/min 투여시 요

Table 4. Effects of left renal arterial infusion of prepro ANP (26-41) on the renal function in unanesthetized rabbits

	Collection Period								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
U V EXPT	0.20±0.04	0.21±0.04	0.15±0.03	0.16±0.03	0.16±0.03	0.15±0.03	0.16±0.04	0.17±0.03	0.18±0.03
CONT	0.21±0.03	0.21±0.03	0.21±0.03	0.19±0.03	0.18±0.03	0.18±0.03	0.18±0.02	0.18±0.03	0.19±0.03
CPAH EXPT	8.57±0.35	8.92±0.35	8.13±0.26	8.12±0.05	8.20±0.28	8.05±0.20	7.91±0.47	8.25±0.44	8.41±0.26
CONT	8.55±0.46	8.49±0.29	8.21±0.30	8.30±0.42	8.13±0.36	7.90±0.37	8.01±0.32	7.94±0.42	7.96±0.27
C Cr EXPT	2.01±0.06	2.04±0.05	1.93±0.05	1.90±0.11	1.94±0.06	1.92±0.05	1.91±0.10	1.99±0.11	2.04±0.09
CONT	2.04±0.09	1.96±0.07	2.09±0.15	2.12±0.18	1.92±0.10	1.93±0.12	1.98±0.11	1.91±0.10	1.89±0.06
F F EXPT	0.24±0.1	0.23±0.01	0.24±0.01	0.23±0.00	0.24±0.01	0.24±0.00	0.24±0.01	0.24±0.00	0.24±0.01
CONT	0.24±0.01	0.23±0.08	0.26±0.02	0.26±0.02	0.24±0.01	0.24±0.01	0.25±0.06	0.24±0.08	0.24±0.06
UNaV EXPT	7.07±2.17	6.90±2.05	5.55±1.77	5.60±1.83	6.61±1.80	7.37±2.07	6.55±1.94	5.19±1.65	5.36±1.55
CONT	9.05±3.02	8.62±2.90	7.96±2.68	7.84±2.79	8.56±1.82	9.74±3.14	9.51±3.11	6.82±2.18	6.88±2.22
FENa EXPT	2.54±0.76	2.48±0.76	2.06±0.61	2.21±0.76	2.48±0.69	2.80±0.76	2.67±0.86	2.00±0.67	1.99±0.62
CONT	3.24±1.03	3.10±0.94	2.85±0.87	2.76±0.94	3.08±0.90	3.40±0.91	3.35±0.98	2.68±0.91	2.73±0.89
UKV EXPT	2.19±0.31	2.17±0.28	2.02±0.30	2.03±0.30	2.21±0.24	2.32±0.27	2.08±0.20	2.16±0.32	2.20±0.32
CONT	2.41±0.35	2.34±0.34	2.26±0.29	2.26±0.33	2.34±0.26	2.38±0.28	2.41±0.18	2.41±0.32	2.25±0.22
UCIV EXPT	9.06±2.89	8.64±2.62	7.39±2.33	6.96±2.21	9.16±2.59	8.32±2.28	7.24±2.05	5.33±1.51	6.22±1.83
CONT	10.54±3.39	9.87±3.19	9.21±3.01	8.94±3.19	9.65±3.12	11.08±3.51	10.18±3.20	7.81±2.12	2.46±2.09
CH ₂ O EXPT	0.073±0.025	0.080±0.028	0.073±0.024	0.046±0.019	0.050±0.016	0.038±0.022	0.072±0.031	0.048±0.032	0.063±0.027
CONT	0.069±0.016	0.077±0.017	0.083±0.019	0.060±0.009	0.053±0.011	0.040±0.015	0.050±0.033	0.049±0.031	0.071±0.026

Values are the mean ± SEM of 7 experiments. Prepro-ANP was infused into left renal artery during the third collection period and each collection period was 10 min. UV, urine volumen in ml/kg/min; CPAH, C Cr and CH₂O, clearances of para-amino-hippuric acid, creatinine and free water in ml/kg/min; FF, filtration fraction; UNaV, UKV and UCIV, urinary excretion of sodium, potassium, and chloride in μ Eq/kg/min; FENa, fractional of sodium in %; EXPT and CONT, experimental left kidney, and control right kidney, respectively.

량은 유의한 변화를 보이지 않았으며, 신혈류량 및 사구체 여과율 역시 7.91 ± 0.30 에서 8.52 ± 0.46 ml/kg/min로, 1.86 ± 0.07 에서 2.00 ± 0.12 ml/mg/min로 각각 증가하는 경향이었으나 통계적으로 유의하지 않았다(Table 2). 요중 Na 배설량은 약물투여전 7.56 ± 1.78 에서 투여기간중 8.53 ± 2.15 μ Eq/kg/min로 증가하는 경향을 보였으나 유의한 변화는 아니었으며 Na의 분획배설량 역시 3.04 ± 0.83 에서 $3.07 \pm 0.78\%$ 로 되어 유의한 변화를 보이지 않았다. 요중 K 및 Cl 배설량의 변화 역시 2.10 ± 0.30 에서 2.27 ± 0.30 μ Eq/kg/min로, 9.68 ± 2.01 에서 10.61 ± 2.45 μ Eq/kg/min로 각각 변화하였으나 통계적으로 유의하지 않았다. 유리수분 배설량은 투여전 0.052 ± 0.012 에서 투여중에는 0.044 ± 0.019 ml/kg/min로 감소하는 경향을 보였으며, 약물투여중지 30분과 40분에는 -0.001 ± 0.019 와 -0.007 ± 0.012 ml/kg/min로 현저히 감소하였다가 서서히 회복되었는데 대조신에서도 이와 유사한 변화를 보였다.

3. Prepro-ANP(56~92)가 신장기능에 미치는 영향

무마취가토의 좌측 신동맥내에 prepro-ANP(56~92)를 0.4 μ g/kg/min 용량으로 10분간 투여할 때 요량은 0.15 ± 0.03 에서 0.14 ± 0.03 ml/kg/min로, 신혈류량은 8.60 ± 0.54 에서 7.60 ± 0.53 ml/kg/min로, 그리고 사구체 여과율은 2.05 ± 0.10 에서 1.84 ± 0.14 ml/kg/min로 되어 유의한 변화를 보이지 않았다. 요중 Na, K 및 Cl 배설량은 2.43 ± 1.04 에서 2.34 ± 11.06 μ Eq/kg/min, 1.77 ± 0.43 에서 1.54 ± 0.37 μ Eq/kg/min로, 그리고 3.84 ± 1.54 에서 3.73 ± 1.67 μ Eq/kg/min로 각각 변화하였으나 통계적으로 유의하지 않았다. Na의 분획배설량 및 유리수분 배설량 역시 prepro-ANP(56~92) 투여에 의해 유의한 변화를 보이지 않았다.

4. Prepro-ANP(104~123)가 신장기능에 미치는 영향

Prepro-ANP(104~123)을 좌측 신동맥내 투여할 때 요량은 0.17 ± 0.03 에서 0.16 ± 0.02 ml/kg/min로, 신혈류량은 7.95 ± 0.41 에서 8.25 ± 0.55 ml/kg/min로, 그리고 사구체 여과율은 1.88 ± 0.11 에서 $1.97 \pm$

0.11 ml/kg/min로 되어 유의한 변화를 보이지 않았다(Table 4, Fig. 2). 요중 Na, K 및 Cl 배설량은 증가하는 경향을 보였으나, 통계적으로 유의하지 않았다(Table 4, Fig. 3, 4). Na의 분획배설량은 0.94 ± 0.32 에서 $1.01 \pm 0.38\%$ 로, 유리수분배설량은 0.068 ± 0.030 에서 0.059 ± 0.020 ml/kg/min로 변화하였으나 통계적으로 유의하지는 않았다(Table 4, Fig. 3, 4).

5. Prepro-ANP(124~151)가 신장기능에 미치는 영향

Prepro-ANP(124~151) (α -hANP, 1~28)을 0.2 μ g/kg/min로 신동맥내 투여시 요량은 0.19 ± 0.02 에서 0.43 ± 0.06 ml/kg/min로 현저히 증가하였으며, 신혈류량 및 사구체여과율 역시 7.22 ± 0.23 에서 9.86 ± 0.72 ml/kg/min로 그리고 1.90 ± 0.10 에서 2.70 ± 0.21 ml/kg/min로 현저히 증가하였다(Fig. 2). 요중 Na 배설량은 ANP 투여전 9.45 ± 0.19 에서 ANP 투여시 32.08 ± 5.83 μ Eq/kg/min로 증가하였으며, 투여중지 10분후에도 21.23 ± 3.38 μ Eq/kg/min로 높게 유지되다가 대조치로 회복되었다. Na의 분획배설량 역시 투여전 3.50 ± 0.60 에서 투여중에는 $8.30 \pm 1.40\%$ 로, 현저히 증가하였으며 투여중지 10분 후에도 $7.45 \pm 1.20\%$ 로 대조치에 비해 높았다(Fig. 3). ANP 투여시 요중 K 및 Cl 배설량은 1.99 ± 0.20 에서 3.28 ± 0.33 μ Eq/kg/min로 그리고 11.53 ± 1.33 에서 36.79 ± 6.17 μ Eq/kg/min로 현저히 증가하였다. 유리수분 배설량은 ANP 투여전 0.069 ± 0.009 에서 투여시 0.116 ± 0.015 ml/kg/min로 현저히 증가하였다가 서서히 감소하였다(Fig. 4).

6. Pro-ANP(26~151)가 신장기능에 미치는 영향

신장내에 투여한 pro-ANP를, ANP(124~151)을 base로 하여, 0.2 μ g/kg/min로 투여할 때 신장기능이 현저히 변화함을 관찰할 수 있었다(Fig. 2, 3, 4). 요량은 투여기간동안 유의하게 증가하였으며, pro-ANP 투여중지 직후 10분동안에는 더욱 더 증가하였고 이때에는 반대측 신장으로부터의 현저한 요량증가를 동반하였다(Fig. 2). 사구체 여과율 및 신혈류량의 증가 또한 투여기간과 투여중지 다음 10

Table 2. Effects of left renal arterial infusion of prepro-ANP (26-55) on the renal function in unanesthetized rabbits

	Collection Period								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
U V EXPT	0.22±0.03	0.20±0.03	0.20±0.05	0.20±0.04	0.20±0.03	0.16±0.03	0.16±0.02	0.18±0.03	0.21±0.04
CONT	0.24±0.03	0.22±0.03	0.21±0.04	0.22±0.04	0.22±0.03	0.18±0.03	0.18±0.03	0.20±0.03	0.22±0.03
CPAH EXPT	8.39±0.33	7.91±0.30	8.52±0.46	8.44±0.16	8.00±0.43	7.64±0.56	8.04±0.24	8.21±0.13	8.63±0.42
CONT	8.18±0.24	8.03±0.23	7.83±0.28	8.26±0.15	8.13±0.37	7.94±0.41	8.24±0.31	8.14±0.16	8.27±0.26
C Cr EXPT	1.93±0.14	1.86±0.07	2.00±0.12	1.98±0.09	1.90±0.09	1.83±0.11	1.97±0.07	1.95±0.03	1.98±0.05
CONT	1.86±0.07	1.87±0.06	1.86±0.09	1.90±0.10	1.91±0.09	1.91±0.07	2.02±0.06	1.86±0.04	1.90±0.04
F F EXPT	0.23±0.01	0.24±0.01	0.23±0.01	0.23±0.01	0.24±0.01	0.24±0.01	0.25±0.01	0.24±0.00	0.23±0.01
CONT	0.23±0.01	0.23±0.00	0.24±0.01	0.23±0.01	0.24±0.00	0.24±0.01	0.25±0.01	0.23±0.00	0.23±0.01
UNaV EXPT	7.81±2.16	7.56±1.78	8.53±2.15	9.51±2.47	10.00±0.36	10.03±2.12	10.31±2.07	10.18±2.14	10.05±2.18
CONT	10.20±2.60	10.15±2.52	11.01±2.91	12.28±3.06	12.47±2.97	13.48±3.12	13.14±2.78	12.56±2.88	12.12±2.62
FENa EXPT	3.10±0.98	3.04±0.83	3.07±0.78	3.56±1.00	3.88±0.97	4.50±1.03	4.00±0.81	3.81±0.88	3.72±0.91
CONT	4.10±1.12	4.08±1.00	4.34±1.20	4.88±1.37	4.89±1.27	5.15±1.22	4.80±1.12	4.88±1.16	4.59±0.98
UKV EXPT	2.12±0.36	2.10±0.30	2.27±0.30	2.34±0.35	2.32±0.32	2.26±0.24	2.39±0.29	2.41±0.29	2.36±0.28
CONT	2.36±0.29	2.35±0.29	2.36±0.29	2.63±0.29	2.51±0.23	2.62±0.24	2.60±0.26	2.51±0.25	2.58±0.28
UCIV EXPT	9.22±2.19	9.68±2.01	10.61±2.45	11.43±2.59	11.66±2.76	11.75±2.60	12.27±2.56	12.06±2.64	12.27±2.70
CONT	11.66±2.69	12.29±2.67	12.73±3.25	11.35±3.40	13.71±3.35	14.31±3.43	13.37±2.75	14.19±3.24	13.69±2.69
CH ₂ O EXPT	0.062±0.007	0.052±0.012	0.044±0.029	0.037±0.028	0.038±0.013	0.001±0.019	0.007±0.012	0.018±0.016	0.041±0.027
CONT	0.069±0.010	0.051±0.008	0.036±0.020	0.038±0.020	0.037±0.014	0.008±0.025	0.008±0.023	0.018±0.009	0.037±0.014

Values are the mean ± SEM of 7 experiments. All legends are the same as in table 1.

Table 3. Effects of left renal arterial infusion of prepro-ANP (56-92) on the renal function in unanesthetized rabbits

	Collection Period								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
U V EXPT	0.13±0.02	0.15±0.03	0.14±0.03	0.13±0.02	0.11±0.03	0.10±0.02	0.10±0.02	0.12±0.03	0.13±0.03
CONT	0.14±0.02	0.15±0.03	0.13±0.02	0.12±0.02	0.11±0.03	0.10±0.02	0.10±0.02	0.12±0.03	0.14±0.03
CPAH EXPT	8.05±0.32	8.60±0.54	7.60±0.53	7.77±0.20	8.09±0.30	6.65±0.66	7.97±0.43	8.12±0.45	8.75±0.53
CONT	8.13±0.36	8.40±0.17	7.84±0.17	7.97±0.18	8.19±0.29	7.44±0.26	8.01±0.29	8.96±0.32	9.17±0.55
G Cr EXPT	1.88±0.05	2.05±0.10	1.84±0.14	1.84±0.07	1.97±0.05	1.62±0.16	1.95±0.10	1.95±0.08	2.06±0.12
CONT	1.93±0.10	1.99±0.08	1.84±0.05	1.85±0.06	1.92±0.08	1.76±0.03	1.96±0.04	2.08±0.10	2.12±0.11
F F EXPT	0.23±0.01	0.24±0.01	0.24±0.01	0.24±0.01	0.24±0.01	0.24±0.00	0.24±0.01	0.24±0.00	0.24±0.00
CONT	0.24±0.01	0.24±0.01	0.24±0.01	0.23±0.01	0.24±0.01	0.24±0.01	0.25±0.01	0.23±0.01	0.23±0.01
UNaV EXPT	2.35±1.02	2.43±1.04	2.34±1.06	2.13±0.81	2.23±0.85	2.05±0.34	2.01±0.65	2.30±0.28	2.60±0.85
CONT	2.60±1.21	2.71±1.26	2.29±0.97	1.94±0.68	2.24±0.80	2.08±0.71	2.13±0.72	2.51±0.89	2.86±1.08
FE _{Na} EXPT	0.95±0.41	0.88±0.34	0.86±0.36	0.87±0.33	0.86±0.32	0.87±0.29	0.75±0.23	0.86±0.27	1.01±0.32
CONT	0.98±0.42	1.03±0.45	0.90±0.37	0.78±0.26	0.59±0.24	0.88±0.29	0.83±0.28	0.90±0.28	0.07±0.40
UKV EXPT	1.67±0.40	1.77±0.43	1.54±0.37	1.58±0.37	1.60±0.41	1.43±0.35	1.66±0.37	1.73±0.30	1.85±0.26
CONT	1.83±0.42	1.87±0.41	1.64±0.39	1.66±0.39	1.72±0.38	1.58±0.33	1.78±0.33	1.90±0.30	1.90±0.24
UCIV EXPT	3.85±1.58	3.84±1.54	3.73±1.67	3.63±1.39	3.40±1.42	3.29±1.44	3.09±1.21	3.83±1.34	3.73±1.37
CONT	4.02±1.64	4.05±1.64	3.55±1.45	3.06±1.24	3.47±1.34	3.14±1.21	3.14±1.13	3.81±1.42	4.06±1.56
CH ₂ O EXPT	0.033±0.019	0.042±0.021	0.046±0.023	0.038±0.019	0.024±0.021	0.025±0.013	0.014±0.016	0.031±0.022	0.043±0.025
CONT	0.035±0.019	0.043±0.019	0.042±0.020	0.032±0.017	0.024±0.020	0.022±0.015	0.013±0.017	0.027±0.024	0.047±0.025

Values are the mean±SEM of 6 experiments. All legends are the same as in table 1.

Table 4. Effects of left renal arterial infusion of prepro-ANP (104-123) on the renal function in unanesthetized rabbits

	Collection Period								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
U V EXPT	0.17±0.03	0.17±0.03	0.16±0.02	0.18±0.03	0.17±0.04	0.13±0.02	0.14±0.02	0.14±0.03	0.14±0.03
CONT	0.17±0.03	0.17±0.03	0.17±0.03	0.18±0.03	0.17±0.03	0.14±0.02	0.15±0.01	0.15±0.03	0.14±0.03
GPAH EXPT	8.11±0.34	7.95±0.41	8.25±0.55	8.38±0.43	7.90±0.56	7.28±0.43	8.09±0.41	7.44±0.78	7.92±1.04
CONT	7.92±0.19	7.95±0.49	8.07±0.36	8.39±0.47	8.74±0.70	7.91±0.41	8.97±0.87	8.01±0.62	8.42±0.78
G Cr EXPT	1.26±0.07	1.88±0.11	1.97±0.11	1.98±0.10	1.91±0.10	1.76±0.09	1.93±0.06	1.75±0.19	1.92±0.26
CONT	1.86±0.07	1.90±0.11	1.97±0.07	2.03±0.09	1.94±0.05	1.88±0.08	2.21±0.15	1.95±0.16	1.93±0.18
F F EXPT	0.23±0.01	0.24±0.01	0.24±0.01	0.24±0.01	0.24±0.01	0.24±0.01	0.24±0.01	0.24±0.01	0.24±0.01
CONT	0.23±0.01	0.24±0.01	0.25±0.00	0.24±0.01	0.23±0.02	0.24±0.04	0.25±0.02	0.24±0.00	0.23±0.01
UNaV EXPT	2.18±0.66	2.29±0.76	2.63±1.09	2.94±1.16	2.85±1.25	2.72±1.42	2.65±1.47	3.33±1.74	3.97±1.79
CONT	2.26±0.65	2.40±0.78	3.02±1.37	2.88±1.10	2.83±1.16	2.81±1.73	3.04±1.73	3.62±1.85	4.46±1.88
FENa EXPT	0.91±0.28	0.94±0.32	1.01±0.38	1.09±0.40	1.14±0.47	1.26±0.69	1.05±0.59	1.39±0.65	1.67±0.70
CONT	0.96±0.29	1.00±0.35	1.19±0.55	1.08±0.41	0.87±0.49	1.21±0.65	1.01±0.52	1.40±0.67	1.89±0.80
UKV EXPT	1.79±0.20	1.88±0.24	1.87±0.19	1.91±0.20	1.86±0.20	1.69±0.22	1.84±0.16	1.80±0.24	2.08±0.26
CONT	2.08±0.22	2.10±0.25	2.16±0.20	2.08±0.18	2.07±0.21	1.94±0.19	2.02±0.17	2.02±0.19	2.46±0.37
UCIV EXPT	2.71±0.73	2.81±0.79	3.19±1.09	3.72±1.15	3.67±1.23	3.29±1.36	3.27±1.38	4.24±1.78	5.08±1.77
CONT	2.77±0.73	2.92±0.73	3.66±1.28	3.54±1.07	3.60±1.15	3.52±1.44	3.68±1.63	4.63±1.89	5.61±1.82
CH ₂ O EXPT	0.073±0.034	0.068±0.030	0.059±0.020	0.081±0.031	0.070±0.031	0.043±0.019	0.044±0.015	0.042±0.017	0.037±0.017
CONT	0.067±0.033	0.071±0.030	0.066±0.025	0.083±0.030	0.071±0.031	0.048±0.019	0.052±0.011	0.049±0.015	0.038±0.031

Values are the mean ± SEM of 6 experiments. All legends are the same as in table 1.

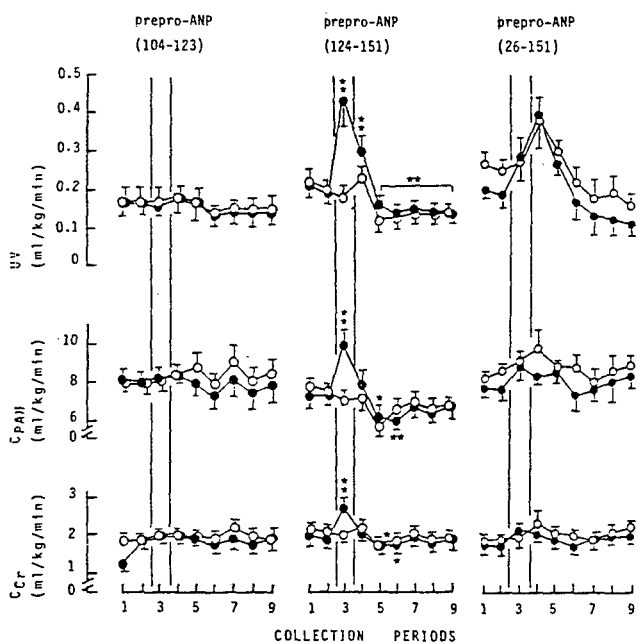


Fig. 2. Effects of left renal arterial infusion of prepro-ANP (104-123), (123-151), and (26-151) on the renal function in unanesthetized rabbits. Each collection period was 10 min. Closed dots represent the experimental left kidney and open dots represent the control right kidney. UV, urine volume; C PAH and C Cr, clearances of para-amino-hippuric acid and creatinine respectively, *, Significantly different from the control value, *, $p < 0.05$, **, $p < 0.01$.

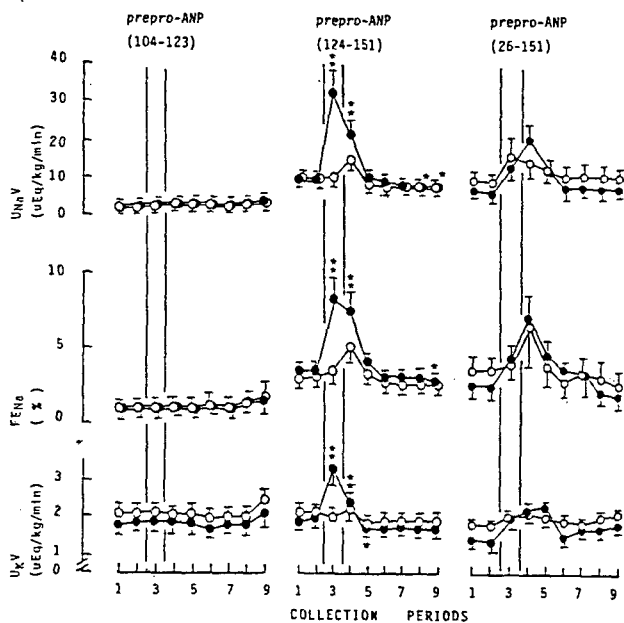


Fig. 3. Effects of left renal arterial infusion of prepro-ANP (103-123), (124-151), and (26-151) on the renal function in unanesthetized rabbits. U_{Na}V and U_KV, urinary excretion of sodium and potassium, respectively FENa, fractional excretion of sodium. Other legends are the same as in Figure 2.

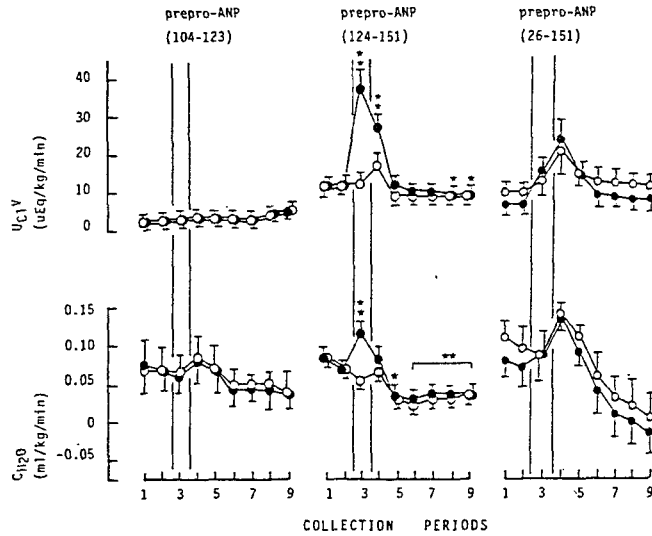


Fig. 4. Effects of left renal arterial infusion of prepro-ANP (103-123), (124-151), and (26-151) on the renal function in unanesthetized rabbits. UC1V, urinary excretion of chloride; CH₂O, free water reabsorption. Other legends are the same as in Figure 2.

분동안 유의하게 나타났다. 요중 Na, K 및 Cl 배설량은 약물투여중의 10분동안과 투여중지 후 10분동안 모두 투여전에 비해 증가되었으며, 그 증가폭은 후자의 기간동안에 더 현저하였다. 투여중지 후 10분동안의 반대측 신장의 요중 전해질 배설량 역시 유의한 증가를 보였다. Na의 분획배설량 역시 투여정지 후 10분동안 투여신장과 반대측 신장 모두에서 유의한 증가를 관찰할 수 있었다 (Fig. 3, 4).

고 안

심방내에서 ANP는 151개(사람) 또는 152개(백서)의 아미노산으로 구성된 prepro-ANP로 존재하다가 hydrophobic signal peptide를 잃고 126개의 아미노산인 pro-ANP로 된다고 알려져 있다. Pro-ANP(prepro-ANP, 26~151)는 심방세포의 perinuclear granule에 저장된 primary form으로서 분비과정에서 또는 분비직전에 C-terminal의 24~28개의 활성화된 peptide로 분비되거나(Cantin & Genest, 1985; De Bold, 1985; Ballerman & Brenner, 1986; Forssmann, 1986) pro-ANP 형태로 분비되어 여러 가지 단백분해효소에 의해 몇 가지 조각 peptide로 나누어진다고 한다(Bloch et al, 1985; Schwartz et

al, 1985; Eskay et al, 1986). Trypsin과 thrombin은 preprohormone의 C-terminal의 123번과 124번 사이의 arginine-serine bond에 작용하여 28개의 아미노산인 ANP(prepro-ANP, 124~151)을 만들 수 있으며(Michner et al, 1986), 92번과 93번 사이의 arginine-aspartic acid 사이를 끊어 cardiodilatin(prepro-ANP, 26~92)을 형성할 수 있다. 또한 혈액이나 심장 내피세포에 존재하는 여러가지 aspartic protease가 aspartic bond에 작용하여 prepro-ANP(26~55), (56~92) 그리고 (104~123)를 만들어 낼 수 있다고 한다(James & Sielecki, 1985; Pearl, 1987).

최근에 Winters등(1988a)은 각각의 prepro-ANP의 조각 peptide들에 대한 예민하고 선택적인 방사면역측정법을 개발하여 사람의 혈장내에 pro-ANP 1~30(prepro-ANP, 26~55)가 1861 pg/ml, 그리고 pro-ANP 31~67(prepro-ANP, 56~92)가 1478 pg/ml 정도 존재하며 만성 신부전증시에는 각각 40, 484 pg/ml, 108,566 pg/ml로 증가한다고 보고하였다. 이어서 Winters등(1988a)은 prepro-ANP의 조각 peptide들이 새벽 4시에 최고치를 보이는 소위 circadian rhythm을 보인다고 하였다. 그러나 prepro-ANP의 N-terminal fragment들의 생리적 역할

에 대한 보고는 아직 별로 없다.

Vesely 등(1987a)은 prepro-ANP(26~55), (56~92)와 prepro-ANP(104~123)이 ANP(prepro-ANP, 124~151)와 유사한 정도로 돼지의 대동맥을 이완시키며 이들은 particulate guanylate cyclase를 활성화시켜 cGMP를 증가시킴으로서 나타난다고 보고하였으며, 또한 가토의 심피질부세포막에서 ANP보다는 약하지만 particulate guanylate cyclase activity를 증가시킨다고 보고하였다(Vesely et al, 1987b). 그러나 본 실험에서 prepro-ANP(26~41), (26~55), (56~92) 및 prepro-ANP(104~123)을 무마취가토의 일측 신통맥내에 투여할 때 하등의 심장기능의 변화를 관찰할 수 없었으며, 다만 α -hANP(prepro-ANP, 124~151)와 pro-ANP를 투여할 때에는 현저한 요량 및 Na 배설량의 증가를 관찰할 수 있었다. Vesely 등(1987b)의 보고에 의하면 가토의 심피질부세포막에서의 N-terminal의 조각 peptide들에 의한 guanylate cyclase activity의 증가는 α -hANP의 투여량이 소량이므로 그 효과가 나타나지 않을 수 있으므로 prepro-ANP(104~123)을 10배 증량하여 4 μ g/kg/min을 10분간(80 μ g/rabbit/10 min) 투여하였으나 심장기능의 변화를 관찰할 수 없었다. ANP에 의한 이뇨 및 Na 배설증가 효과는 cGMP를 경유하여 나타난다고 한다(Vesely et al, 1987b). 그러나 prepro-ANP의 조각 peptide 투여에 의해 cGMP는 증가하나(Vesely et al, 1987b) 이뇨 및 Na 배설증가효과가 나타나지 않았던 것은 이해하기 힘든 부분이다. ANP 투여에 의한 이뇨 및 Na 배설량 증가효과가 cGMP 합성의 증가와 꼭 일치하는 것은 아니라는 Campbell(1988) 등의 보고와 사구체에 존재하는 ANP 수용체는 guanylate cyclase와 직접적으로 연결되어 있지는 않다고 하는 Ballermann 등(1985)의 보고등으로 미루어 보아 prepro-ANP의 조각 peptide 투여에 의해 cGMP양은 증가하더라도 심장효과는 나타나지 않을 수 있을 것으로 사료된다. 또한 본 실험에서 사용한 prepro-ANP 투여량이 너무 소량이어서 심장효과가 나타나지 않을 수 있을 것이나 10배 증량하여서도 그 효과가 나타나지 않는 것으로 미루어보아 만일 그 효과가 있다고 가정하더라도 potency가 ANP보다는 최소한 10배 이상 낮을 것으로 추측된

다.

Winters 등(1988a, b)의 보고에 의하면 사람의 혈장내에 N-terminal의 조각 peptide가 α -hANP의 20~30배 정도 존재하므로 이에 의한 요량 및 Na 배설량이 현저히 증가될 것이 기대되나 반드시 그렇지 않은 것 같다. Prepro-ANP의 N-terminal의 조각 peptide에 의한 실험이 모두 생체의 실험이었기 때문에 생체내 실험과 상이할 수 있을 것이다. 즉 혈장내에 존재하는 prepro-ANP의 조각 peptide 수용체가 ANP의 수용체와 동일한 것인지는 알 수 없으나 Winters의 보고(1988b)처럼 혈장에 고농도의 prepro-ANP의 N-terminal 조각 peptide가 존재한다면 prepro-ANP의 receptor는 down-regulation이 되어 투여한 prepro-ANP에 대한 반응성이 약화될 수도 있을 것이다. 그러나 백서나 가토의 혈장내에도 prepro-ANP의 N-terminal 조각 peptide가 그렇게 고농도로 존재하는지는 의문이다. 또한 prepro-ANP의 N-terminal 조각 peptide가 ANP의 "clearance receptor"를 경유한다면 혈장에 존재하는 고농도의 prepro-ANP의 N-terminal 조각 peptide에 의해 ANP의 생물학적 반감기가 훨씬 연장될 것이므로 ANP의 agonist로 작용할 수 있을 것이나 "clearance receptor"에 붙은 ring-deleted ANP인 des (Gln¹⁸, Ser¹⁹, Gly²⁰, Leu²¹, Gly²²) rat ANP(C-ANP, 4~23)는 cGMP를 합성하지 않는다고 알려졌다(Maack et al, 1985). 이상의 사실들은 prepro-ANP가 신장에서 이뇨 및 Na 배설효과를 나타내는 데는 C-terminal이 매우 중요함을 암시하고 있다.

Pro-ANP(prepro-ANP 26~151)에 의한 심장기능의 변화가 잘 알려진 ANP의 심장효과(Lee & Cho, 1986)와 유사하다는 사실은 대단히 흥미있는 일이다. 그러나 그 작용양상이 ANP와는 약간의 차이를 보였는데, 예를들면 약물투여 기간보다는 약물투여 정지 직후(10분대)에 그 효과가 더 현저하다는 점이다. 또한 ANP의 구조와 부분적으로는 공통성이 있지만 전체적으로 볼 때 상이한 구조를 갖는 pro-ANP가 어떻게 ANP와 유사한 심장효과를 보이는지는 아직 설명할 수 있는 보고가 없다. Pro-ANP는 그 자체가 심장효과를 나타내는지, 아니면 혈장이나 신장조직에 존재하는 Pro-ANP 대사 효소에 의하여 생성된 C-terminal의 ANP가 그 작용

을 나타내는 것인지에 대해서도 아직 알 수 없다. Pro-ANP 투여기간 동안의 신장효과가 불순물로 포함된 ANP 때문에 나타났으리라고는 생각되지 않는다. 오히려 pro-ANP가 신장내의 작용점에 이르기 전에 pro-ANP에서 ANP로의 전환의 결과 나타날 수도 있을 것이다. 투여정지후 10분동안에 보다 더 현저한 신장효과를 보이며, 동시에 반대측 신장에서도 ANP 투여시 보다는 더 현저한 신장효과를 보이는 현상은 아직 설명할 수 없다. 최소한도 pro-ANP는 투여후 신장효과를 나타낼때까지 ANP 보다는 더 많은 시간이 필요한 것 같다. 신장효과에 관한 한 그 생물학적 반감기는 ANP에 비하여 훨씬 긴 것인지, 또 pro-ANP의 작용은 ANP의 작용기전의 일부를 공유하는 것인지는 앞으로 더욱 추구되어야 할 과제이다.

결 론

Prepro-ANP fragment의 생리적 역할을 구명하기 위하여 무마취 가토의 신동맥내로 prepro-ANP(26~41), (26~55) 및 (104~123)을 투여하여 나타나는 신장기능의 변화를 α -hANP와 pro-ANP의 신장효과와 비교하였다.

1) Prepro-ANP(26~41), (26~55), (56~99) 및 (104~123)을 0.4 μ g/kg/min 용량으로 투여할 때 신장기능은 변화하지 않았다.

2) α -hANP(prepro-ANP, 124~151)을 0.2 μ g/kg/min 용량으로 투여시 요량, 신혈류량, 사구체여과율 및 요중 Na 배설량은 현저히 증가하였다.

3) Pro-ANP(prepro-ANP, 26~151)의 투여로 요량, 신혈류량, 사구체여과율 및 요중 Na 배설량은 현저히 증가되었다.

이상의 결과는 pro-ANP의 N-terminal 조각 peptide는 생리학적 효과가 없으나, 그 C-terminal peptide는 생리적인 효과가 있음을 나타내며, 동시에 이러한 사실은 또한 pro-ANP의 신장기능에 대한 효과는 N-terminal 보다는 C-terminal의 기능에 의하여 유발됨을 암시한다.

ACKNOWLEDGEMENTS

실험을 위하여 도움을 준 남경화, 나온진, 왕경숙

양과 원고를 준비하는데 도움을 준 설경미양에게 깊은 감사를 드립니다.

REFERENCES

- Ballermann BJ, Hoover RL, Katnovsky MJ & Brenner BM (1985). Physiologic regulation of atrial natriuretic peptide receptors in rat renal glomeruli. *J Clin Invest* 76, 2049-2056
- Ballermann BJ & Brenner BM (1986). Role of atrial peptides in body fluid homeostasis. *Circ Res* 58, 619-630
- Bloch KD, Scott JA, Zisfein JB, Fallon JT, Margolies MN, Seidman CE, Matsueda GR, Homcy CJ, Graham RA & Seidman JG (1985). Biosynthesis and secretion of proatrial natriuretic factor by cultured rat cardiocytes. *Science* 230, 1168-1171
- Campbell HT, Lightfoot BO & Sklar AH (1988). Four hour atrial natriuretic peptide infusion in conscious rats: Effects on urinary volume, sodium, and cyclic GMP. *Proc Soc Exp Biol Med* 189, 317-324
- Cantin M & Genest J (1985). The heart and the atrial natriuretic factor. *Endocrine Rev* 6, 107-127
- Cho KW, Koh GY, Kim SH & Seul KH (1987). Unilateral renal arterial infusion and renal vein catheterization in rabbits. *Renal Physiol* 10, 93-101
- Cho KW, Seul KH, Ryu H, Kim SH & Koh GY (1988a). Characterization of distension-induced release of immunoreactive atrial natriuretic peptide in the perfused rabbit atria. *Regul Peptides* 22, 333-345
- Cho KW, Seul KH, Kim SH, Ryu H, Seul KM & Koh GY (1988b). Epicardial release of immunoreactive atrial natriuretic peptides in inside-out perfused rabbit atria. *Biochem Biophys Res Commun* 153, 811-817
- De Bold AJ (1979). Heart atria granularity. Effects of changes in water-electrolyte balance. *Proc Soc Exp Biol Med* 161, 508-511
- De Bold AJ, Borenstein HB, Veress AT & Sonnenberg AH (1981). A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sci* 28, 89-94
- De Bold AJ (1985). Atrial natriuretic factor: A hormone produced by the heart. *Science* 230, 767-769

- Eskay R, Zukowska-Grojec Z, Haas M, Dave JR & Zamir N (1986). Circulating atrial natriuretic peptides in conscious rats: regulation of release by multiple factors. *Science* 1232, 636-639
- Forssmann WG (1986). Cardiac hormones. I. Review on the morphology, biochemistry, and molecular biology of the endocrine heart. *Eur J Clin Invest* 16, 439-451
- Graham RM & Zisfein JB (1986). Atrial natriuretic factor: Biosynthetic regulation and role in circulatory homeostasis. In: Fozzard HA et al (ed) *The heart and cardiovascular system*. Ravess, New York, p1559-1571
- Henry JP, Gauer OH & Reeves JL (1956). Evidence of the atrial location of receptors influencing urine flow. *Circ Res* 4, 85-90
- Kisch B (1956). Electron microscopy of the atrium of the heart. I Guinea pig. *Exp Med Surg* 14, 99-112
- Kim SH, Cho KW, Seul KW, Ryu H & Koh GY (1989). Presence of immunoreactive atrial natriuretic peptide in follicular fluid, ovary and ovarian perfusates. *Life Sci* 45, 1581-1589
- James MN & Sielecki AR (1985). Stereochemical analysis of peptide bond hydrolysis catalyzed by the aspartic proteinase penicillopepsis. *Biochemistry* 24, 3701-3713
- Jamieson JD & Palade GE (1964). Specific granules in atrial muscle cells. *J Cell Biol* 23, 151-172
- Kelly RB (1985). Pathways of protein secretion in eukaryotes. *Science* 230, 25-32
- Maack T, Almeida FA, Suzuki M, Nussensveig DR, Scarborough RM & Lewicki (1985). Physiological role of atrial natriuretic factor receptors. In: Brenner BM & Laragh JH (ed), *Advances in atrial peptide research*, Vol II, Raven Press; New York, p25-29
- Marie JP, Gillemot H & Hatt PY (1976). Le degre de granulation des cardiocytes auriculaires: etude planimetrique au cours de differents apports deau et de sodium chez le rat. *Pathol Biol* 24, 549-554
- Michner ML, Gierse JK, Seetharam R, Fok KF, Olins PO, Mai MS & Needleman (1986). Proteolytic processing of atriopeptin prohormone. *Mol Pharmacol* 30, 552-557
- Pearl LH (1987). FEBS letter 214, 8-12
- Phillips RA (1964). In: Peter and Vanslyke (ed) *Quantitative clinical chemistry* Vol 2, Williams & Wilkins, Baltimore
- Reinhardt HW, Kaczmarczyk G, Eisele R, Arnold B, Eigenheer F & Kuhl U (1977). Left atrial pressure and sodium balance in conscious dogs on a low sodium intake. *Pflugers Arch* 370, 59-66
- Rhee KS, Kim YJ, Kim SH & Cho KW (1989). Effect of adenosine receptor antagonists on the renal function and renin release in rabbit. *Kor J Physiol* 23, 377-391 (in Korean)
- Schwartz D, Geller DM, Manning PT, Siegel NR, Fok KF, Smith CE & Needleman P (1985). Ser-Leu-Arg-Arg-Atriopeptin III: The major circulating form of atrial peptide. *Science* 229, 397-400
- Smith HW, Finkelstein N, Aliminoso A, Crawford B & Graber M (1945). The renal clearances of substituted hippuric acid derivatives and other aromatic acids in dogs and man. *J Clin Invest* 24, 388-404
- Vesely DL, Norris JS, Malters JM, Jespersen JR & Baeyens DA (1987a). Atrial natriuretic prohormone peptides, 1-30, 31-67, and 79-98 vasodilate the aorta. *Biochem Biophys Res Commun* 148, 1540-1548
- Vesely DL, Bayliss JM & Sallman AL (1987b). Human prepro atrial natriuretic factors 26-55, 56-92, and 104-123 increase renal guanylate cyclase activity. *Biochem Biophys Res Commun* 143, 186-193
- Vurek GG & Pergram SE (1966). Fluorometric method for the determination of nanogram quantities of inulin. *Anal Biochem* 16, 409-419
- Winters CJ, Sallman AL, Meadows J, Rico DM & Vesely DL (1988a). Two new hormones: prohormone atrial natriuretic peptides 1-30 and 31-67 circulate in man. *Biochem Biophys Res Commun* 150, 231-236
- Winters CJ, Sallman AL & Vesely DL (1988b). Circadian rhythm of prohormone atrial natriuretic peptides, 1-30, 31-67 and 99-126 in man. *Chronobiology Int* 5, 403-409
- Wood P (1963). Polyuria in paroxysmal tachycardia and paroxysmal atrial flutter and fibrillation. *Br Heart J* 25, 273-282